

エストロゲンによる食道組織傷害抑制作用の機序に関する研究：Ussing chamberを用いた検討

著者	本田 純也
号	85
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3533号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00097170

(書式12)

氏名	ほんだ じゅんや 本田 純也
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	平成28年3月25日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程)医科学専攻
学位論文題目	エストロゲンによる食道組織傷害抑制作用の機序に関する研究 : Ussing chamber を用いた検討
論文審査委員	主査 教授 下瀬川 徹 教授 福土 審 教授 福島 浩平

論文内容要旨

【研究背景】食道腺癌は男性優位に発現する予後不良な悪性疾患であり、その前駆状態であるバレット食道、逆流性食道炎の発現も男性で多いことが知られている。その要因の一つに、女性ホルモンであるエストロゲンがこれら一連の食道疾患に対して抑制的に作用していることが考えられている。しかし、エストロゲンが食道粘膜に保護的作用を与える具体的な機序については未だ十分に解明されていない。

【研究目的】ウサギ食道粘膜のバリア機能とエストロゲンとの関係を *ex vivo* の Ussing chamber を用いたモデルによって検討する。さらに、バリア機能に関与する食道上皮細胞間隙の微細構造についても検討し、実際のヒト食道における粘膜傷害に関連付ける。

【研究方法】雄性ウサギの食道を摘出し、粘膜層のみを Ussing chamber の中央に挟み、電気生理学的検討および透過性の検討を行った。その際、エストロゲンが食道粘膜に与える影響を検討するために、Ussing chamber における検討 14 日前に、ウサギ皮下組織に 17 β -estradiol (10mg / pellet, 21-day release) もしくは placebo を投与した。Ussing chamber に接続した循環リザーバーの管腔側には塩酸 (pH 2.0)、亜硝酸塩 (5.0 mM, pH 2.0)、Krebs buffer (pH 7.4) のいずれかを還流し、また基底側には全ての条件で krebs buffer (pH 7.4) を還流し、経時的なバリア機能の変化を粘膜抵抗値およびフルオレセインによる粘膜透過性から評価した。その後、塩酸 (pH 2.0) 暴露前後の組織を用いて、細胞間隙距離の測定、細胞間接着構造である tight junction 蛋白 (occludin, claudin-1, claudin-4) の発現を検討した。

【研究結果】17 β -estradiol を投与した食道粘膜において、各刺激前の食道粘膜抵抗値およびフルオレセイン透過性は placebo を投与した組織と比較し明らかな差は認めなかった。それにもかかわらず、塩酸および亜硝酸塩投与に伴う経時的な粘膜抵抗値の低下およびフルオレセイン透過量の増加は、17 β -estradiol 群でその変化が抑制された。また、17 β -estradiol 群と placebo 群の細胞間隙距離の比較では、17 β -estradiol 群において酸暴露後の細胞間隙距離が狭く、細胞同士が密に接着する形態が示された。tight junction 蛋白である occludin は 17 β -estradiol 投与により蛋白の増加が認められ、claudin-1, claudin-4 には有意な変化は認められなかった。

【結論】エストロゲンは tight junction 蛋白である occludin の発現を調整し、食道粘膜バリア機能を増強させている可能性が示唆された。そして、男女における食道バリア機能の違いが、逆流性食道炎、さらにはバレット食道や食道腺癌の男性優位性を導いていると考えられた。

審 査 結 果 の 要 旨

博士論文題目 エストロゲンによる食道組織傷害抑制作用の機序に関する研究
: Ussing chamber を用いた検討

所属専攻・分野名 医科学専攻 ・ 消化器病態学分野

学籍番号 B2MD5115 氏名 本田 純也

食道腺癌は男性優位に発現する予後不良な悪性疾患であり、その前駆状態であるバレット食道、逆流性食道炎の発現も男性で多いことが知られている。その要因の一つに、女性ホルモンであるエストロゲンがこれら一連の食道疾患に対して抑制的に作用していることが考えられている。しかし、エストロゲンが食道粘膜に保護的作用を与える具体的な機序については未だ十分に解明されていない。そこで、本研究ではウサギ食道粘膜のバリア機能とエストロゲンとの関係を *ex vivo* の Ussing chamber を用いたモデルによって検討した。

雄性ウサギの食道を摘出し、粘膜層のみを Ussing chamber の中央に挟み、電気生理学的検討および透過性の検討を行った。その際、エストロゲンが食道粘膜に与える影響を検討するために、Ussing chamber における検討 14 日前に、ウサギ皮下組織に 17 β -estradiol (10mg / pellet, 21-day release) もしくは placebo を投与した。Ussing chamber に接続した循環リザーバーの管腔側には塩酸 (pH 2.0)、亜硝酸塩 (5.0 mM, pH 2.0)、Krebs buffer (pH 7.4) のいずれかを還流し、また基底側には全ての条件で krebs buffer (pH 7.4) を還流し、経時的なバリア機能の変化を粘膜抵抗値およびフルオレセインによる粘膜透過性から評価した。その後、塩酸 (pH 2.0) 暴露前後の組織を用いて、細胞間隙距離の測定、細胞間接着構造である tight junction 蛋白 (occludin、claudin-1、claudin-4) の発現を検討した。

17 β -estradiol を投与した食道粘膜において、各刺激前の食道粘膜抵抗値およびフルオレセイン透過性は placebo を投与した組織と比較し明らかな差は認めなかった。それにもかかわらず、塩酸および亜硝酸塩投与に伴う経時的な粘膜抵抗値の低下およびフルオレセイン透過量の増加は、17 β -estradiol 群でその変化が抑制された。また、17 β -estradiol 群と placebo 群の細胞間隙距離の比較では、17 β -estradiol 群において酸暴露後の細胞間隙距離が狭く、細胞同士が密に接着する形態が示された。tight junction 蛋白である occludin は 17 β -estradiol 投与により蛋白の増加が認められ、claudin-1、claudin-4 には有意な変化は認められなかった。

以上のことから、エストロゲンは tight junction 蛋白である occludin の発現を調整し、食道粘膜バリア機能を増強させている可能性が示唆された。そして、男女における食道バリア機能の違いが、逆流性食道炎、さらにはバレット食道や食道腺癌の男性優位性を導いていると考えられた。

第一次審査において指摘された点が適切に修正されている。17 β -estradiol が tight junction に及ぼす作用については他研究でも検討されており、本研究結果はこれからの臨床に資する可能性を有しており、本研究の意義は深い。審査の結果、本論文内容が十分学位に値することが確認された。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。